CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ACIDES PHÉNOLS PRÉSENTS DANS LES SOLS

par

S. BRUCKERT, F. JACQUIN, M. METCHE

Centre de Pédologie, C. N. R. S. - E. N. S. A. et E. S. B. - Nancy

---

SOMMAIRE

b) Comparaison des techniques de purification et d'isolement des composés phénoliques :

1) efficacité du solvant utilisé ;

2) comparaison de la purification des extraits par simple agitation ou par extraction en continu.

B. - *Détermination quantitative des composés phénoliques en fonction des types de sols.*

a) En fonction du processus pédogénétique des sols :

1) Comparaison des horizons A_1 ;

2) Comparaison des horizons A_1 et B ;

3) Comparaison des horizons d'accumulation ;

b) En fonction de l'activité biologique des sols ;

c) En fonction du taux d'humification des sols :

1) Comparaison entre teneurs en carbone et en acides phénols ;

2) Variations quantitatives des acides phénols ;

3) Relation entre la solubilisation des phénols et la composition des substances humiques ;

4) Evolution des acides phénols au cours de l'humification ;

5) Essais d'interprétation de l'ensemble de ces résultats.

IV. — CONCLUSION.

RESUME.

Dans les sols, les composés phénoliques peuvent faire partie ou provenir soit de matières organiques végétales et microbiennes en voie d'évolution, soit de composés humiques. Le plus souvent, les acides-phénols sont engagés dans des groupements fonctionnels, hétérosides, esters, éthers-oxydes, etc... intégrés dans des édifices moléculaires plus ou moins complexes dont l'ensemble forme la matière organique des sols.

La fragilité de certains liens ou de certains composés nous a entraînés à mettre au point un protocole d'extraction permettant :

— d'isoler les acides phénols libres ou plus ou moins liés, sans provoquer de néoformation ou de destruction ;

— d'essayer de connaître par l'emploi de méthodes plus drastiques, les modes de liaison de ces composés phénoliques simples au sein d'édifices moléculaires plus complexes.

Enfin, une étude systématique des acides phénols présents dans les horizons caractéristiques de quelques profils types nous a permis d'émettre des hypothèses quant à la dynamique de ces substances dans les sols.

I. - GENERALITES

La plupart des composés phénoliques présents dans les sols proviennent de la décomposition des substances organiques végétales ; aussi, nous avons voulu de prime abord, esquisser une comparaison entre la composition qualitative en acides phénols des végétaux et des sols.

a) **Substances phénoliques des végétaux.**

Il est inutile de rappeler ici l'importance taxonomique des substances phénoliques des végétaux ; ces composés sont caractérisés par la présence dans leur molécule, d'un ou plusieurs groupements fonctionnels OH portés par un seul ou par plusieurs noyaux benzéniques simples ou accolés. On rencontre parmi ces substances des composés simples mais aussi des polymères de masse moléculaire élevée dont les tanins condensés et la lignine sont les représentants les plus connus.

Du point de vue structural, ces composés naturels comportent rarement un seul groupement fonctionnel, ce qui justifie le terme de « polyphénols » ou de « substances polyphénoliques ». En outre, on rencontre le plus souvent la fonction phénol associée à d'autres groupements parmi lesquels COOH (acide carboxylique) et NH_2 (amine). Cependant, dans leur grande majorité, les substances phénoliques naturelles sont engagées à l'état natif dans des combinaisons de type hétéroside dans lesquelles les groupements OH sont substitués par des sucres simples ; cette structure confère à ces substances une solubilité notable en milieux aqueux, en effet, les aglycones phénoliques seules sont peu solubles dans l'eau.

Les esters d'acides carboxyliques et de phénols sont aussi très répandus, il s'agit souvent de composés dont la partie acyle est elle-même de nature aromatique. La présence simultanée d'un groupement phénolique OH et d'une fonction acide carboxylique COOH confère à ces substances une structure privilégiée qui rend compte de leur participation à divers processus métaboliques et chimiques.

On rencontre également les acides phénols à l'état libre mais le plus souvent ils sont salifiés ou bien engagés dans des combinaisons esters ou hétérosides. Parmi les esters les plus importants ,signalons les combinaisons avec les sucres et l'acide quinique ; rappelons que les tanins dits hydrolysables font partie de la première catégorie, ce qui leur confère une grande importance.

Il existe aussi dans les végétaux des substances macromoléculaires complexes à caractère polyphénolique telles que la lignine ; ce constituant très important n'est pas unique ; on rencontre encore de nombreux polymères de la catéchine, des polyleuco-anthocyanes qui, sous la rubrique de tanins condensés, retiennent à l'heure actuelle une bonne part de l'activité consacrée aux substances phénoliques des végétaux.

b) **Substances phénoliques des sols.**

Ce rapide aperçu sur les principaux constituants phénoliques des végétaux permet de penser que ces substances se retrouvent dans les sols plus ou moins modifiées après transformation microbiologique ou chimique. En effet, ces transformations sont étroitement liées à la nature et à la composition de la matière végétale, ce qui conduit JENKINSON (1965) à penser que la décomposition des résidus végétaux est tributaire davantage de leur chimie et de leur biochimie que de la nature du sol dans lequel elle a lieu ; néanmoins, il ne s'agit pas pour autant de

méconnaître la contribution spécifique de la microflore.

Si les hétérosides et les esters de phénols sont, en général, facilement métabolisés par les microorganismes du sol, il n'en va pas de même de tous les composés phénoliques dont certains inhibent le développement de la microflore et dans ce cas des processus spécifiquement chimiques interviennent seuls dans leur transformation.

De même, la dégradation microbienne de la lignine fournit à la matière organique des sols un appoint important en substances phénoliques simples A ces transformations cataboliques typiquement biologiques, il convient d'associer des processus spécifiquement chimiques qui conduisent à l'élaboration de substances phénoliques complexes plus ou moins condensées. On peut penser en effet que l'action catalytique des ions Cu^{++} et Fe^{+++} joue un rôle primordial dans l'oxydation des composés phénoliques complexes au même titre que les systèmes oxydasiques d'origine enzymatique.

Ces oxydations s'accompagnent généralement de la formation de composés quinoniques (BURGES et *al*, 1963), dont la polymérisation ouvre la voie aux polycondensations complexes, notamment avec des substances azotées (FLAIG, 1960 ; HAIDER et *al*, 1965).

De cet ensemble de transformations, il résulte la formation de substances organiques plus ou moins complexes de types humiques qui peuvent s'unir à la fraction minérale du sol pour former des composés organo-minéraux stables.

En résumé, on peut donc dire que les composés phénoliques des végétaux subissent dans les sols des transformations chimiques et biologiques aboutissant plus ou moins rapidement soit à une condensation complexe, soit à une dégradation avec disparition du caractère aromatique.

c) **Extraction des composés phénoliques.**

Au cours de cette étude, l'extraction et l'isolement des substances phénoliques simples des sols ont été établis en tenant compte de la nature des groupements fonctionnels fréquemment associés à ces substances : polyphénols, hétérosides, acides phénols, esters, amino-phénols, phénols complexes. D'autre part ,la mise en solution de ces composés dépend également des propriétés physico-chimiques des sols ; on conçoit, en effet, que les groupements phénoliques et carboxyliques (OH et COOH) soient plus facilement ionisés à pH alcalin qu'à pH acide ; de ce fait, il résulte une solubilité beaucoup plus grande de ces substances en milieu aqueux et alcalin tandis que l'extraction à l'aide de solvants organiques est plus facile en milieu acide.

En tenant compte de l'observation précédente, l'extraction des composés phénoliques d'un sol peut être obtenue par traitement à l'aide de solvants usuels : eau ; alcools (méthanol, éthanol, butanol) ; esters (acétate d'éthyle, acétate d'isopropyle) ; cétones (acétone, méthyl - éthylcétone) ; ethers - oxydes (éther éthylique).

L'eau, dont la polarité est élevée, dissout les composés oxhydrylés avec d'autant plus de facilité que la molécule comporte un plus grand nombre de OH. L'utilisation de l'eau en tant que solvant d'extraction trouve donc sa justification dans l'isolement des hétérosides phénoliques et des substances polymérisées dans lesquelles on rencontre fréquemment associées, de manière complexe, des fonctions phénols, COOH et polyols.

Les alcools et les cétones sont généralement d'excellents solvants pour les phénols mais extraient en même temps un grand nombre de substances de nature différente, y compris des composés complexes de masse moléculaire élevée.

La recherche d'un solvant sélectif, peu miscible à l'eau et de polarité moyenne présente donc un intérêt pour l'extraction des substances phénoliques ; les esters (acétate d'éthyle et acétate d'isopropyle) et les éthers-oxydes semblent assez bien répondre à ces exigences. En effet, une extraction par l'acétate d'éthyle ou d'isopropyle permet de séparer à pH 6 les composés phénoliques simples des acides phénols salifiés. Pour extraire ces derniers, il suffira ensuite d'amener le milieu à pH 1-2 pour lequel la fonction COOH n'est pratiquement plus ionisée.

Plus sélectif que les esters, l'éther éthylique (éthane-oxyéthane) n'en est pas moins un excellent solvant des composés phénoliques simples ; il a l'avantage d'être volatil, peu miscible à l'eau et il s'élimine facilement par simple distillation sans risque de dégradation des extraits. Son utilisation impose toutefois une restriction : il est indispensable de le débarrasser au préalable de ses peroxydes.

Pour une extraction quantitative de l'ensemble des constituants phénoliques d'un sol, on peut encore utiliser une solution aqueuse alcaline (NaOH, KOH,

carbonates alcalins, chaux). Dans ces conditions, l'ionisation de la fonction phénol pour des pH compris entre 8 et 10, facilite la solubilisation de ces substances dans le milieu ; une acidification à pH 1-2 suivie d'une extraction à l'aide d'un solvant organique peu miscible à l'eau (éther, esters, etc...), permet ensuite leur isolement. Toutefois l'utilisation de solutions aqueuses alcalines soulève quelques critiques en raison de la vitesse d'autoxydation élevée des composés phénoliques et de la polymérisation qui accompagne cette réaction ; cette dernière peut être rendue plus complexe encore par la présence de substances azotées. D'autre part, les esters phénoliques et les depsides risquent d'être scindés à température ambiante, en milieu aqueux à des pH voisins de 10. Enfin, il est probable que l'extraction alcaline ne va pas sans altérer une partie des acides phénols de la série cinnamique (COHEN et *al*, 1960) et sans modifier plus ou moins profondément la conformation des polymères.

L'utilisation d'une solution aqueuse acide (pH 1) doit permettre l'extraction des substances azotées possédant des fonctions phénols ; la neutralisation du milieu suivie d'un traitement avec un solvant organique approprié facilite ensuite leur isolement. Ce fractionnement acide a également pour effet de libérer les acides phénols de leurs sels solubles ou non solubles dans l'eau et leur extraction se pose alors de la même manière que celle des acides libres. Indépendamment de l'insolubilisation de certaines fractions (acides humiques dont le point isoélectrique est voisin du pH de la solution aqueuse acide), il est fort probable qu'en milieu acide, on assiste à une destruction des complexes organo-métalliques (Al^{+++}, Fe^{+++}, Cu^{++}) et à une hydrolyse partielle d'esters et d'hétérosides phénoliques, ce qui représente un apport supplémentaire en composés phénoliques simples.

II. - PROTOCOLE EXPERIMENTAL

A) Choix, description et préparation du matériel d'étude.

Cette étude a pour but de préciser dans quelle mesure la composition phénolique des sols varie en fonction :

1° de leur évolution pédogénétique,

2° de leur activité biologique,

3° du degré d'humification de la matière organique,

Afin d'apporter quelques réponses à ces trois points, nous avons choisi les horizons de quatre sols décrits et analysés ci-dessous.

a) DESCRIPTION :

1) *Horizon A_1* d'un podzol humo-ferrugineux sur grès vosgien prélevé en avril 1967 ; altitude 500 m. Forêt de Biffontaine : *Pinus silvestris* ; *Calluna vulgaris* et *Vaccinium myrtillus.*

Profil : (*)

A_0	(0 - 8 cm) :	xéromor fibreux, brun noir.
A_1	(8 - 10 cm) :	base du mor de couleur gris-rougeâtre sombre (5 YR 2/2) à structure particulaire ; matière organique juxtaposée aux grains de quartz brillants.
A_2	(10 - 55 cm) :	cendreux gris, sableux à structure particulaire.
B_h	(55 - 60 cm) :	brun rouge sombre (2,5 YR 3/4); horizon d'accumulation humique ; friable ; structure pelliculaire.
B_{fe}	(60 - 70 cm) :	alios durci rouge jaune vif.

2) *Horizons A_1 et B_h* d'un podzol humo-ferrugineux très semblable au précédent prélevés en juin 1967 - Forêt de Taintrux (Vosges).

3) *Hydromull calcique :* prélevé en juin 1967 en Forêt de Haye (Meurthe-et-Moselle) ; sol noir de bas fond provenant de la transformation d'une ancienne tourbière calcique. Humus épais, noir, très aéré, formé de gros grumeaux arrondis, reposant sur un substratum de calcaire bajocien très divisé (grouine).

4) *Horizons A_1 et B* d'un sol brun lessivé à mull eutrophe prélevés en juin 1967 ; altitude 300 m. Forêt de Haye (Meurthe et-Moselle) : *Quercus sessiliflora* et plantes herbacées du mull eutrophe.

Profil : (*)

A_1	(0 - 8 cm) :	mull eutrophe brun sombre (10 YR 3/3), finement grumeleux, très poreux, texture limoneuse, racines très abondantes.

(*) Profil analysé et décrit par BRUCKERT et JACQUIN (1966).

A_2 (8 - 30 cm) : brun jaunâtre sombre ; limono-argileux.

B (30 - 50 cm) : brun rougeâtre (5 YR 4/4) ; structure polyédrique à enrobements brillants ; texture argilo-limoneuse.

Nous avons également analysé *une litière de chêne* récoltée au moment de la chute des feuilles (novembre 1966) sur le mull eutrophe ci-dessus.

b) ANALYSES CHIMIQUES :

En vue de compléter la définition des horizons utilisés, nous résumons dans le Tableau I les valeurs caractéristiques essentielles à notre étude.

TABLEAU I. — *Analyse du matériel étudié*

Sols et Horizons	pH eau	H_2O %	C total %	C/N	S/T à pH 7	Argile %	Fer libre ‰
Podzols humo - ferrugineux :							
A_1 (Biffontaine)	3,5	22,6	5,62	37,5	2,6	0,1	0,96
A_1 (Taintrux)	3,7	19,2	3,71	37	5,9	0,5	1,24
B_h »	3,7	29,4	4,60	32	2,7	5,0	14,0
Sol brun lessivé :							
A_1	5,4	26,2	4,10	10,7	73,2	22,6	32,1
B	4,8	15,8	0,75	11,2	49,8	35,6	60,1
Hydromull calcique :							
A_1	7,3	36,2	8,36	12	sat.	20,0	23,0

Carbone total mesuré au « Carbograph Wostoff ».
Fer libre extrait par le réactif de Tamm combiné à l'hydrosulfite de sodium.

c) PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS :

— Les horizons des divers sols, passés au tamis à mailles de 2 mm, ont été analysés à l'état frais.

— Feuilles de chêne : celles-ci ont été séchées à la température ambiante du laboratoire puis utilisées directement ou après un broyage au mixeur.

En ce qui concerne la dessiccation du matériel à température ambiante, nous avons montré par ailleurs que la teneur en éléments hydrosolubles des litières augmente après séchage (JACQUIN et BRUCKERT, 1965) ; ce fait ne semble pas se produire pour les horizons minéraux ; en effet, les résultats d'extractions alcalines ($Ca(OH)_2$) effectuées sur un A_1 de Podzol frais ou sec à l'air, ne fournissent pas de différences significatives.

B) **Méthodes d'extraction des composés phénoliques.**

Afin de compenser, dans la mesure du possible, l'hétérogénéité du substratum, chaque analyse a été conduite au minimum en deux exemplaires.

a) EXTRACTION PAR L'EAU DISTILLÉE :

— *Horizons minéraux :* un minimum de 300 g de sol répartis en trois fractions, est introduit dans trois colonnes en verre (300 mm de haut et 35 mm de diamètre) dont la partie inférieure, munie d'un robinet à rodage, est tapissée d'un tampon de laine de verre ; l'eau distillée est ajoutée simultanément pour recouvrir constamment le sol et éviter la formation de bulles d'air ; après une nuit de macération, on percole chaque colonne pendant 4 à 6 heures de façon à recueillir 1 l d'extrait pour 100 g de sol ; la totalité du percolat, partiellement concentré (200 ml) à une température inférieure à 35° C et sous pression réduite, est centrifugée, puis concentrée à nouveau jusqu'à un volume de 20 ml environ ; l'extrait est acidifié à pH 1 par HCl 2 N, abandonné une nuit à 4° C (précipitation des composés humiques), puis centrifugé ; le surnageant constitue la **solution 1.**

— *Litières de chêne :*

Les composés hydrosolubles sont extraits à partir de 5 g de feuilles broyées ou non par percolation après une nuit de macération ; une fraction du perco-

lat, concentré à une température de 35° C sous pression réduite, est acidifiée à pH 1, puis centrifugée ; le surnageant sera traité suivant le même protocole que la solution 1.

b) EXTRACTION PAR UNE SUSPENSION AQUEUSE DE CHAUX 0,1 ET 0,4 N :

50 g de sol sont introduits dans un tube de centrifugeuse de 100 ml ; on ajoute 75 ml d'eau, puis un poids donné de $Ca(OH)_2$ afin d'obtenir une solution voisine de 0,1 N ou de 0,4 N ; cette dernière opération et la fermeture du tube sont faites sous courant d'azote ; après une agitation pendant deux heures, on centrifuge et une fraction aliquote du surnageant filtré est acidifiée à pH 1 par HCl 4 N (**Solution 2**).

c) EXTRACTION PAR UNE SOLUTION DE SOUDE 2 N :

— *Horizons minéraux :*

On procède comme dans le cas précédent sous courant d'azote, mais en remplaçant la chaux et l'eau par 75 ml de soude 2 N ; après acidification de l'extrait obtenu, on laisse précipiter les acides humiques pendant une nuit ; on centrifuge pour recueillir le surnageant (**Solution 3**).

— *Litières de chêne :*

A 5 g de feuilles non broyées, on ajoute sous courant d'azote, 300 ml de soude 2 N ; après une nuit de macération, on recueille l'extrait par percolation ; une partie du percolat est ensuite traitée de la même manière que l'extrait des horizons minéraux.

d) EXTRACTION PAR LE MÉTHANOL.

— *Horizons minéraux :*

200 g de sol sont agités pendant deux heures en présence de 300 ml d'une solution aqueuse de méthanol (60 %) ; après isolement de la phase liquide, on procède à une deuxième extraction ; les deux extraits réunis sont évaporés à sec sous pression réduite (35° C), puis repris par du méthanol.

La solution ainsi obtenue, divisée en quatre fractions, est chromatographiée :

— directement,

— après acidification à pH 1 et extraction à l'acétate d'éthyle,

— après un traitement par la soude 2 N, suivi d'une acidification à pH 1 et d'une extraction à l'acétate d'éthyle,

— après une heure d'ébullition avec reflux en présence d'HCl 2 N, suivi d'une extraction à l'acétate d'éthyle.

— *Litières de chêne :*

5 g de feuilles non broyées sont mis à macérer une nuit dans du méthanol pur, puis les composés phénoliques sont extraits par percolation ; une fraction du percolat est chromatographiée soit directement, soit après acidification à pH 1 et extraction à l'acétate d'éthyle.

C) **Purification des extraits et isolement des composés phénoliques.**

Les solutions 1, 2 et 3 provenant des horizons minéraux et les solutions issues des extraits de litières définis plus haut, sont respectivement agitées pendant une minute dans une ampoule à décanter en présence d'acétate d'éthyle ; après séparation, la phase organique est isolée de la phase aqueuse ; l'opération est répétée trois ou quatre fois ; on élimine les traces d'eau de la phase organique par agitation avec 1 ou 2 g de SO_4Na_2 anhydre ; enfin, l'extrait filtré est concentré sous pression réduite jusqu'à 25 ml.

Avant de choisir ce solvant et cette méthode, nous les avons comparés respectivement à l'éther éthylique et à la technique d'extraction en continu ; les résultats rapportés plus loin, montrent que le protocole retenu reste le plus efficace et le plus rapide.

En ce qui concerne la solution 3 (solution sodique), nous devons mentionner deux difficultés :

1° la technique par agitation provoque une émulsion lorsque le volume de cette solution dépasse 20 ml ;

2° la phase organique solubilise une partie des acides fulviques qui gênent la chromatographie ; il est alors possible d'éliminer les composés fulviques en les précipitant à l'aide d'une solution de $Ca(OH)_2$; après centrifugation, le surnageant amené à nouveau à pH 1 est traité par le solvant organique.

D) **Identification et dosage des composés phénoliques.**

a) Les composés phénoliques sont identifiés par chromatographie sur papier Whatman n° 1 ; les séparations sont obtenues par développements bidimentionnels avec les systèmes de solvants suivants :

1° Solution aqueuse d'acide acétique à 2 % ;

2° Benzène, acide acétique, eau : 6/7/3 (V/V) ; développement avec la phase organique, la phase aqueuse étant placée dans l'enceinte ;

3° n-butanol, acide acétique, eau : 4/1/2,2 (V/V).

Les chromatogrammes sont examinés en lumière de WOOD, puis révélés par une solution de p-nitraniline diazotée ou par une solution de chlorure ferrique.

b) La détermination quantitative s'effectue par chromatographie unidimentionnelle : sur chaque chromatogramme, les extraits à doser sont encadrés de témoins à des concentrations croissantes ; après révélation appropriée des composés phénoliques, la densité optique des taches est mesurée au densitomètre enregistreur Photovolt Corporation, selon la méthode de METCHE et *al.* (1962).

III. - RESULTATS ET DISCUSSION

A) Influence des conditions expérimentales.

a) RÉSULTATS OBTENUS EN FONCTION DES DIFFÉRENTS MODES D'EXTRACTION :

Dans le but de comparer les différents protocoles d'extraction, nous rapportons :

— dans le Tableau II, les résultats obtenus avec la litière de chêne ;

— dans le Tableau III, ceux relatifs à l'horizon A_1 du podzol de Biffontaine.

Les différents acides sont désignés par les abréviations suivantes : van. : vanillique ; p-hb : p-hydroxybenzoïque ; p-cou. : p-coumarique ; fer : férulique; prot. : protocatéchique.

1° *Cas d'une litière de chêne* (Tableau II et Planche I) :

Les résultats obtenus en effectuant des extractions par l'eau, le méthanol ou la soude, permettent les remarques ci-dessous :

— *par l'eau :*

Nous distinguerons l'action de l'eau sur une litière broyée et sur des feuillles conservées entières ; les conditions expérimentales de ce deuxième traitement se rapprochent davantage des conditions naturelles et nous paraissent écologiquement préférables, cependant, à titre de comparaison, nous avons déterminé la composition du matériel entier et broyé selon une méthode utilisée par plusieurs auteurs (COULSON et *al,* 1960 ; NYKVIST, 1963 ; MUIR et *al,* 1964).

Du point de vue qualitatif, la composition en substances phénoliques du matériel broyé ou non reste sensiblement la même ; dans les deux cas, l'eau extrait plusieurs composés phénoliques ; parmi ces derniers, nous avons identifié les acides chlorogénique, gallique, caféique, gentisique, protocatéchique, férulique, vanillique, p-hydroxybenzoïque et p-coumarique.

La détermination quantitative des cinq derniers composés (Tableau III) démontre que le broyage de l'échantillon multiplie leur teneur par un coefficient voisin de deux.

— *Par le méthanol* (COULSON et *al,* 1960) :

Le pouvoir d'extraction de ce solvant à partir de feuilles non broyées, se révèle moins élevé que celui de l'eau en ce qui concerne la solubilisation des acides phénols ; par contre, le méthanol extrait davantage de polymères.

— *Par* NaOH 2 N :

Comparée à l'eau, la soude solubilise davantage de substances phénoliques et surtout augmente de façon considérable la mise en solution de l'acide p-coumarique (sa teneur est multipliée par 40). L'acide p-coumarique étant généralement très répandu chez les végétaux, on le rencontre à la fois à l'état libre et combiné à des sucres sous forme d'esters et d'hétérosides (HARBORNE et CORNER, 1961) ; la soude 2 N saponifie aisément ces composés et en libère les acides correspondants. Il existe donc une différence fondamentale entre les extraits à l'eau et les extraits alcalins. Tandis que les extraits à l'eau contiennent surtout des acides libres, les extraits alcalins sont enrichis d'acides provenant de la saponification de leurs esters.

2° *Horizon A_1 du podzol de Biffontaine* (Tableau III).

Si nous comparons les résultats obtenus suivant les différents modes d'extraction, nous constatons les effets suivants :

— l'eau et le méthanol n'extraient que de faibles quantités d'acides phénols ; celles-ci semblent correspondre aux acides phénols libres (ou à leurs sels) réellement présents dans les sols ; cependant, ces deux réactifs solubilisent aussi des quantités relati-

TABLEAU II. — *Influence des conditions expérimentales sur la composition d'une litière de chêne.*

Traitement		Acides phénols exprimés en p.p.m. du poids sec à 105° C				
Extraction	Feuilles	van.	p-hb.	p-cou	fer.	prot.
1) Eau	entières	72	45	37	9	15
2) Eau	broyées	135	95	59	12	28
3) Méthanol	entières	129	13	6	8	7
4) Na OH 2 N..	entières	210	82	1650	48	32

TABLEAU III. — *Influence des conditions expérimentales sur la composition d'un horizon A_1 de Podzol.*

Traitement		Acides phénols exprimés en p.p.m. du sol sec à 105° C				
Extraction	Isolement	van.	p-hb	p-cou.	fer.	prot.
1) Eau	Agitation	0,45	0,09	0,06	0,02	
2) $Ca(OH)_2$ 0,1 N (pH = 11,7).	»	8,07	2,15	9,51	0,84	1,0
3) $Ca(OH)_2$ 0,4 N (pH = 12,3).	»	8,15	2,05	9,80	0,98	1,2
4) $Ca(OH)_2$ 0,4 N (pH = 12,3).	En continu	7,91	2,78	9,69	0,89	1,1
5) NaOH 2 N (pH > 13)	Agitation	15,38	3,94	10,18	1,85	5,5
6) Méthanol-eau (60 %) :						
a) acidifié à pH 1	Agitation	0,27	0,11	tr.	0,02	
b) traité par NaOH 2 N..	»	2,1	0,65	0,9	0,2	
c) traité par HCl 2 N ...	»	1,8	0,27	0,07	0,1	

vement importantes d'acides liés à des composés organiques (esters, hétérosides). Ces acides phénols sont assez aisément libérés à la fois par traitements alcalin et acide, ce qui permet de penser que leurs liaisons avec d'autres substances sont assez lâches ;

— la chaux, réactif utilisé aussi par MARTIN et *al.* (1965) et surtout la soude solubilisent des quantités de produits beaucoup plus élevées résultant soit d'une saponification, soit d'une libération à partir de composés complexes.

b) COMPARAISON DES TECHNIQUES DE PURIFICATION ET D'ISOLEMENT DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES.

1° *Efficacité du solvant utilisé :*

Il était intéressant de comparer l'efficacité de l'éther éthylique et de l'acétate d'éthyle vis-à-vis de la solubilisation des substances phénoliques ; dans ce but, nous avons effectué trois extractions successives par agitation soit à l'éther éthylique, soit à l'acétate d'éthyle sur deux fractions identiques d'un extrait $Ca(OH)_2$; l'analyse chromatographique de chaque extraction conduit aux résultats suivants (Tableau IV) : l'acétate d'éthyle, comparé à l'éther, extrait plus rapidement les composés phénoliques. Prenons pour exemple l'acide vanillique : dès la

TABLEAU IV. — *Efficacité du solvant d'extraction.*

Extraction par	van. % *	p-hb %	p-cou %
l'éther éthylique :			
1re	81,5	85,1	89,8
2e	16,2	13,2	8,9
3e	2,0	1,3	1,1
l'acétate d'éthyle :			
1re	93,8	92,3	97,95
2e	6,2	7,7	2,04
3e	0	0	0,01

* % d'acide extrait par rapport au total de chaque acide.

première extraction, l'acétate d'éthyle isole 93,8 % de ce produit, alors que l'éther n'en solubilise que 81,5 % ; en outre, dans nos conditions expérimentales, il s'avère nécessaire de répéter l'extraction au moins quatre fois avec l'éther éthylique ou trois fois avec l'acétate d'éthyle. Bien que ce dernier, comparé au premier, soit plus efficace, il paraît difficile de préconiser l'emploi de l'un ou de l'autre ; seul le but de l'étude permettra de choisir entre les deux solvants :

— en présence d'un sol relativement riche en composés phénoliques et contenant peu de matière organique non transformée (sols cultivés), il semble préférable d'utiliser l'acétate d'éthyle ;

— à l'inverse, pour l'étude d'un horizon organique en pleine transformation, riche en composés humiques intermédiaires (moder, mor, etc...), il paraît nécessaire d'employer l'éther éthylique pour éviter une trop grande solubilisation de substances polymérisées.

2° *Comparaison des techniques d'extraction par agitation ou en continu :*

Les résultats du Tableau III (lignes 3 et 4) semblent démontrer qu'ils n'existe pas de différence significative entre la purification des extraits, effectuée par agitation à l'ampoule à décanter ou en continu pendant six heures.

B) Détermination quantitative des composés phénoliques en fonction des types de sol.

L'identification et la détermination quantitative des composés phénoliques semblent mettre en évidence leur interférence dans la pédogénèse des sols étudiés ; nous rechercherons successivement le rôle de ces substances en fonction du type pédogénétique, de l'activité biologique et du taux d'humification des sols.

a) EN FONCTION DU PROCESSUS PÉDOGÉNÉTIQUE DES SOLS :

Deux types de sols retiendront tout d'abord notre attention : les podzols et les sols lessivés. A la lecture du Tableau V, on remarque un premier résultat essentiel : les horizons des sols à mor, comparés aux horizons des sols à mull, contiennent, en nombre et en quantité, davantage de substances phénoliques(*). En outre, il est possible d'observer quelques différences significatives.

1° *Comparaison des horizons* A_1.

Les résultats obtenus par les trois modes d'extraction mettent en évidence l'importance de l'acide vanillique dans les milieux podzoliques :

— l'eau par exemple, met en solution une quantité de cet acide au moins dix fois plus grande dans un A_1 de podzol, comparé à un A_1 de sol brun lessivé ; ce fait confirme un résultat déjà acquis (BRUCKERT et JACQUIN, 1966) ;

— les rapports entre les quantités d'acide vanillique extraites par la chaux ou la soude et celles solubilisée par l'eau montrent que les réactifs alcalins mettent en solution vingt ou quarante fois plus d'acide vanillique que l'eau dans le cas d'un mor et cinquante à cent fois plus dans celui d'un mull.

Ainsi, dans le milieu podzolique, une proportion plus importante de l'acide vanillique se trouve sous forme hydrosoluble, donc sous une forme mobile.

2° *Comparaison des horizons* A_1 *et* B.

Quel que soit le réactif d'extraction, la quantité d'acide phénol dosée dans les horizons d'accumulation et rapportée aux horizons A_1 renseigne sur la migration et la persistance des composés phénoliques ; il apparaît avec évidence que ceux-ci migrent dans un profil podzolique et s'accumulent en B_h, alors qu'ils sont fortement immobilisés dans le mull et ne sont présents qu'en faible quantité dans le B d'un sol lessivé.

Par exemple l'eau n'extrait que très peu de substances phénoliques à partir d'un horizon B (sol lessivé) ; seul l'acide p-hydroxybenzoïque s'y trouve en quantité dosable. Si nous considérons le total des acides hydrosolubles, le rapport entre les horizons A_1 et B est très élevé dans le cas d'un sol lessivé (160), alors qu'il est beaucoup plus faible dans celui d'un podzol (7) ; ces résultats concernant les acides phénols hydrosolubles confirment ceux obtenus dans un travail précédent (BRUCKERT, 1966).

(*) Les caractéristiques chromatographiques de ces composés sont portées au Tableau V *bis* et illustrées par la Planche I.

TABLEAU V. — *Comparaison des teneurs en acides phénols des différents sols.*

Acides phénols identifiés extraits à partir du sol frais : quantité exprimée en p.p.m. du sol sec à 105° C.
Composés phénoliques non identifiés : +++ très abondant ; ++ abondant ; + présent ; absence de croix : non décelé.

COMPOSÉS	PODZOLS HUMO-FERRUGINEUX									SOL BRUN LESSIVÉ						HYDROMULL CALCIQUE		
	A_1 (BIFFONTAINE) EXTRAIT PAR :			A_1 (TAINTRUX)			B_h (TAINTRUX)			A_1			B					
	H_2O	Ca $(OH)_2$	NaOH	H_2O	Ca $(OH)_2$	NaOH	H_2O	Ca $(OH)_2$	NaOH	H_2O	Ca $(OH)_2$	NaOH	H_2O	Ca $(OH)_2$	NaOH	H_2O	Ca $(OH)_2$	NaOH
van.	0,45	8,2	15,4	0,30	5,9	8,6	0,03	1,8	5,8	0,03	1,6	3,0	tr.	0,14	0,22	0,03	0,87	1,9
p-hb	0,09	2,1	3,9	0,08	1,4	2,3	0,02	0,7	2,5	0,07	1,1	3,1	0,001	0,09	0,30	0,06	0,69	5,4
p-cou	0,06	9,8	10,2	0,07	2,8	5,7	0,01	0,5	0,9	0,05	2,4	5,1	tr.	0,08	0,09	0,04	1,63	8,1
fer.	0,02	0,98	1,9	0,03	0,4	1,2	0,01	0,1	0,8	0,01	0,3	0,8		0,01	0,02	0,01	0,09	0,4
prot.		1,2	5,5		0,8	6,0		0,1	1,8		tr.	tr.					tr.	0,1
TOTAL..	0,62	22,28	36,9	0,48	11,3	23,8	0,07	3,2	11,8	0,16	5,4	12,0	0,001	0,32	0,63	0,14	3,28	15,9
1		++	+++		++	+++					+							
2			++			++			+			+			+			+
3		+++	+++		++	++			+			+						+
4		+++	+++		++	++			+			+						+
5	+	+++	+++	+	+++	+++	+	++	+++	+	+	++		+	+	+	+	++
6		+	+															
7		++	+++		++	+++		+	++		+	+		+	+		+	+
8		+	++		+	++		+	+		+						+	
9	+	+++	+++	+	++	+++	+	+	++		+	++		+	+			+
10		+	++		+	++		+	++		+	+		+	+		+	+
11		+++						++		+	++	++		+	+	+	++	
12		+	+		++													
13		+	+		+	+						+						+
14		+	+		+	+		+	+		+				+		+	+
15		+	+		+	+		+	+									
16		+	+		+	+		+	+		+			+			+	
17		+	+		+	+			+									
18		+	+		+	+			+									
19		+	+		+	+			+									
20		+	+		+	+												
21					+	+				+								
22										+						+	+	++
23											+			+			+	+
24			++			+			+									
25			+			+			+			+						+
26			++			+												+
27			+++			++			+++			+			+			+

TABLEAU V *bis*. — *Caractérisation chromatographique des substances phénoliques.*

COMPOSÉS	SOLVANTS et Rf × 100 (*a*)			OBSERVATIONS en lum. de WOOD (*b*)		REVELATION (*b*) p - Nitraniline	
	A. Ac	Benz.	But.	directe	+ NH_3	seule	+ CO_3Na_2
van.	54	80	89	—	—	j	V
p-hb.	58	51	93	—	—	j	r
p-cou	37 et 69	54	90	g-V	VB	o	B
fer	27 et 58	80	90	g-V	B	r	g-B
prot.	49	12	84	—	—	j	g-V
1 (*c*)	17	0	18	—	j	o	o-br
2 (*c*)	74	0	60	—	j	o	o-br
3	60	8	93	—	—	o-j	V
4	68	4	93	—	—	o-j	V
5	90	12	61	—	—	o	v
6	66	18	66	V	V	—	V
7 (*d*)	81	16	73	B	B	o-j	r
8	84	22	52	—	—	r	r-p
9	57	94	90	V	V	p	p
10	37	87	70	—	—	r	—
11	68	77	84	—	—	j	j-v
12	12	43	—	g-v	g-v	—	—
13	42	42	—	g-v	g-v	—	—
14	69	34	73	—	V	—	—
15	54	65	84	—	V	—	—
16	64	53	82	—	V	—	—
17	3	74	3	V	V	—	—
18	58	77	—	g-B	g-B	—	—
19	11	89	—	g-B	j-v	—	—
20	30	7	—	g-B	g-B	—	—
21	83	41	—	—	—	j	r
22	81	38	—	—	—	o	V
23	80	65	—	—	—	j	V
24 (*d*)	68	0	60	B	B-g	o-br	g-V
25 (*d*)	0	0	72	—	—	o	br
26 (*d*)	90	0	61	abs	abs	o	o-g
27 (*d*)	71	0	60	o	o	o	o-br

(*a*) Solvants : se reporter au texte.

(b) Couleurs observées: B : bleu ; V : violet ; p : pourpre ; j : jaune ; v : vert ; o : ocre ; br : brun ; r : rose ; g : gris ; abs : absorbant.

(*c*) Flavonol j en lumière naturelle, j-v très intense sous l'action de NH_3, j pâle avec Cl_3Fe.

(*d*) Egalement décelable par Cl_3Fe.

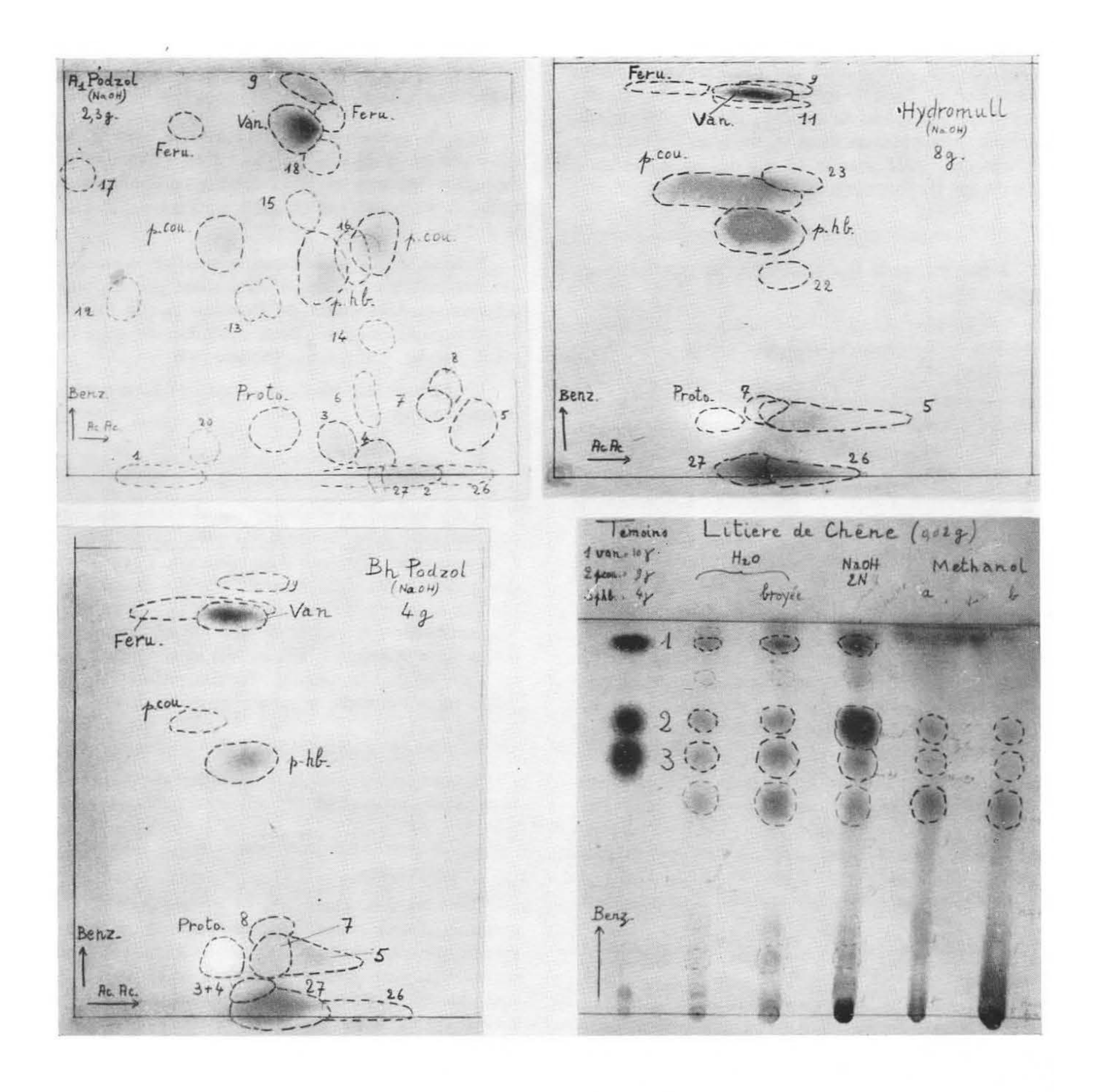


PLANCHE I

Composés phénoliques présents dans les extraits sodiques de sols et dans les extraits aqueux, sodiques et méthanoliques d'une litière de chêne.

Solvants : acide acétique 2% ; benzène, acide acétique, eau, 6/7/3. Révélation : p-nitraniline. Identification des composés phénoliques : se reporter au Tableau V *bis*.

De plus, la mise en solution des composés phénoliques par les réactifs alcalins met en évidence : (1) la persistance et l'accumulation de ces produits dans les sols podzoliques (au total la soude extrait 23,8 p.p.m. d'acides en A_1 et 11,8 p.p.m. en B_h, soit deux fois moins seulement ; (2) la faible migration de ces substances dans un sol brun lessivé (dans ce cas, la soude extrait 12 p.p.m. en A_1 et 0,63 p.p.m. en B, soit vingt fois moins).

3° *Comparaison des horizons d'accumulation :*

Les horizons B (sol lessivé) et B_h (podzol) s'opposent totalement :

— en effet, la quantité d'acides phénols hydrosolubles est soixante-dix fois plus élevée dans l'hozizon B_h ;

— cette opposition est confirmée si nous examinons les quantités de produits mises en solution par les réactifs alcalins ; la soude, par exemple, n'extrait que 0,22 p.p.m d'acide vanillique d'un B, alors qu'elle solubilise 5,8 p.p.m. de ce même acide d'un B_h, soit trente fois plus.

Ainsi l'ensemble des résultats traduit une évolution des composés phénoliques différentes dans les deux types de sols étudiés (podzols et sols lessivés) :

— ces substances, immobilisées dès l'horizon A_1 par des processus physico-chimiques (Bruckert et Dommergues, 1967), disparaissent rapidement dans les profils de sols lessivés par biodégradation (Dommergues et Duchaufour, 1965 ; Bruckert et Dommergues, 1966) ;

— à l'opposé, ces produits phénoliques persistent et migrent en profondeur dans les profils podzoliques ; au cours de leur transfert, ils sont susceptibles de complexer les sesquioxydes et, une fois leur molécule saturée (King et Bloomfield, 1966), de s'immobiliser au niveau des horizons d'accumulation.

b) En fonction de l'activité biologique des sols :

De nombreux chercheurs, entre autres Knösel (1959), Whitehead (1964), Flaig (1964 et 1965), admettent actuellement que les composés phénoliques, suivant leur nature et leur concentration, sont capables de ralentir ou de stimuler l'activité biologique et même le développement physiologique des plantes supérieures. On pourrait envisager que les faibles concentrations en produits phénoliques libres ou peu liés, dosées dans les sols à mull, provoqueraient une action stimulante sur la prolifération des microorganismes ; à l'opposé, les fortes concentrations facilement libérées par les sols à mor (horizons A_1 et B_h) entraîneraient une inhibition de l'activité biologique.

c) En fonction du taux d'humification des sols :

Afin de permettre des comparaisons plus aisées entre des types de sols éloignés, il est préférable de rapporter les teneurs en composés phénoliques à celles du carbone ; ces résultats sont consignés dans le Tableau VI.

Notons tout d'abord que la matière organique des échantillons étudiés se caractérise par un taux d'humification croissant de l'horizon A_1 du Podzol à l'hydromull calcique ; cette évolution est mise en relief par les chiffres du Tableau VII.

L'ensemble des résultats permet d'effectuer plusieurs remarques.

1° *Comparaison entre les teneurs en carbone et en acides phénols :*

Il est logique de mettre en parallèle les résultats obtenus avec deux horizons de même type soumis à un processus identique d'humification. Les A_1 des deux podzols ont des quantités absolues en carbone total et en acides phénols différentes (Tableaux I et V) ; cependant, la teneur relative de ces deux éléments reste la même (Tableau VI) et en conséquence, dans ce cas, la quantité d'acides phénols libérée paraît proportionnelle au pourcentage de carbone.

2° *Variations quantitatives des acides phénols :*

Si nous considérons la composition des horizons, nous observons surtout des différences quantitatives.

α) *Rapport acide vanillique - acide p-hydroxybenzoïque :*

Dans les sols à mor (A_1 et B_h des podzols), la quantité d'acide vanillique, comparée à celle de l'acide p-hydrozybenzoïque, est toujours trois ou quatre fois plus élevée ; à l'opposé, dans les sols à mull, la teneur en acide p-hydroxybenzoïque est au moins égale, sinon supérieure à celle de l'acide vanillique.

β) *Variations des acides p-coumarique, férulique et protocatéchique :*

— p-coumarique :

On remarque l'abondance relative de ce composé dans tous les humus, où sa teneur dépasse celle du

TABLEAU VI. — *Comparaison des différents sols.*

Acides phénols identifiés extraits à partir du sol frais : quantité exprimée en p.p.m. du carbone total à 105° C.

Sols et Horizons	Réactif d'extraction	Acides en p.p.m. du carbone total					
		van.	p-hb	p-cou	fer.	prot.	somme
Podzol h. - ferrugineux A1 (Biffontaine)	H_2O	8,0	1,6	1,06	0,35		11,0
	$Ca(OH)_2$	145,0	36,5	174,4	17,4	21,3	394,6
	NaOH	273,7	70,1	181,1	32,9	97,8	655,6
Podzol h. - ferrugineux A1 (Taintrux)	H_2O	8,1	2,1	1,9	0,8		12,9
	$Ca(OH)_2$	159,6	36,6	76,3	10,8	21,5	304,8
	NaOH	231,0	61,4	153,6	31,0	161,7	638,7
Bh (»)	H_2O	0,54	0,32	0,26	0,17		1,29
	$Ca(OH)_2$	39,1	15,9	10,0	1,9	2,2	69,1
	NaOH	126,3	54,1	18,5	18,0	39,1	256,0
Sol brun lessivé A1	H_2O	0,73	1,7	1,21	0,24		3,88
	$Ca(OH)_2$	38,0	27,8	57,8	6,1	traces	129,7
	NaOH	74,1	75,6	123,4	18,5	traces	291,6
B	H_2O	traces	0,13	traces			0,13
	$Ca(OH)_2$	18,6	12,0	10,7	1,3		42,6
	NaOH	29,3	40,0	12,0	2,6		83,9
Hydromull calcique	H_2O	0,35	0,71	0,47	0,09		1,62
	$Ca(OH)_2$	10,4	8,2	19,5	1,1	traces	39,2
	NaOH	22,7	63,9	97,2	4,9	0,9	189,6

TABLEAU VII. — *Relation entre le taux d'humification et les acides phénols alcalino-solubles.*

Sols et Horizons	Rapports AF/AH	Taux d'humification *	Somme des acides phénols (p.p.m. du C tot.) extraits par	
			$Ca(OH)_2$	NaOH
Podzols humo-ferrugineux :				
A1 (Biffontaine)	2,3	20,8	394,6	655,6
A1 (Taintrux)	3,0	35,3	304,8	638,7
Bh »	2,6	63,1	69,1	256,0
Sol brun lessivé :				
A1	1,7	72,9	129,7	291,6
B	n.d.	88,5	42,6	83,9
Hydromull calcique	0,6	88,0	39,2	189,6

* Taux d'humification déterminé par la méthode DUCHAUFOUR-JACQUIN (1966) en utilisant une liqueur de densité 1,8.
n.d. : rapport non déterminé en raison de la faiblesse du taux d'acides humiques.

p-hydroxybenzoïque (extractions alcalines) ; par contre, dans les hozizons B, on observe le rapport inverse ;

— **férulique et protocatéchique :**

Il est intéressant de constater la richesse en acide férulique des sols à mor par rapport aux sols à mull et la présence en quantité importante, après extraction alcaline, de l'acide protocatéchique dans les horizons podzoliques (A_1 et B_h).

3° *Relation entre la solubilisation des phénols et la composition des substances humiques :*

Les variations quantitatives que nous venons d'analyser sont à rapprocher des résultats obtenus par JACQUIN (1963) en ce qui concerne la composition phénolique des acides humiques. En vue de confirmer l'étroite dépendance existant entre les produits humiques et la solubilisation des phénols, il nous a paru nécessaire de préciser l'action sur les acides humiques d'un réactif drastique (NaOH 2 N).

Dans ce but, nous avons extrait par une solution de pyrophosphate de sodium à pH inférieur à 10, les composés humiques des horizons A_1 et B_h d'un podzol et ceux de l'hydromull calcique ; dans ces conditions, nous pensons obtenir des acides humiques chimiquement peu remaniés ; le pH de la solution d'extraction décroît en présence des sols jusqu'à atteindre 8,4 (A_1 et B_h du podzol) et 9,4 (hydromull calcique).

Les acides humiques, isolés par précipitation à pH 1, sont rincés à l'eau, puis agités plusieurs fois en présence d'éther éthylique ; l'extrait éthéré correspondant au dernier lavage a permis de vérifier, par chromatographie, l'absence de composés phénoliques. Nous avons alors repris, sous courant d'azote, les acides humiques ainsi purifiés par une solution de soude 2 N ; après une agitation de deux heures, les acides humiques, précipités à pH 1, sont séparés par centrifugation ; enfin, nous avons effectué des extractions éthérées sur le surnageant.

Le dosage par chromatographie révèle de façon évidente l'attaque des acides humiques par la soude 2 N ; en outre, les résultats (Tableau VIII) permettent d'effectuer les remarques suivantes :

— la solubilisation des acides phénols est d'autant plus faible que l'humification des horizons est plus élevée ;

TABLEAU VIII. — *Teneurs en acides phénols des acides humiques* *

Acides	Podzol humo-ferrugineux		Hydromull calcique
	A_1	B_h	
van.	1700	184	42
p-hb	350	57	74
p-cou.	376	5	23
fer.	76	10	5
prot..	220		

* Teneur exprimée en p.p.m. du carbone.

— le composé le plus libéré à partir des acides humiques est l'acide vanillique dans le cas des horizons podzoliques et l'acide p-hydroxybenzoïque dans celui de l'hydromull calcique ;

— la quantité d'acides phénols extraite des acides humiques de l'horizon A_1 podzolique est bien plus grande que celle extraite de l'horizon lui-même (Tableau VI, résultats rapportés au carbone total) ; cette différence provient évidemment du faible taux d'humification de cet horizon riche en carbone correspondant à une matière organique encore peu transformée ;

— la quantité de produits mise en solution par la soude, loin d'être négligeable, n'atteint cependant pas celle obtenue par hydrolyse acide (HCl 6 N) ; par exemple, l'acide vanillique résultant de l'hydrolyse des acides humiques de l'horizon B_h, représente une teneur de 765 p.p.m. (JACQUIN, 1963) ; on peut penser qu'une hydrolyse acide libère, à partir de composés phénoliques engagés dans des fonctions hétérosides, esters et amides, des acides phénols, des sucres et des amino-sucres ; ce fait est confirmé par un accroissement parallèle de la teneur du milieu en acides phénols et en sucres simples au cours des hydrolyses acides.

4° *Evolution des acides phénols au cours de l'humification :*

α) *Comparaison des horizons* A_1 *et* B *:*

Quel que soit le réactif d'extraction utilisé, il apparaît clairement que les teneurs en acides phénols des horizons B sont toujours inférieures à celles des

horizons A_1 (Tableau VI) ; ces résultats et les observations précédentes concernant les acides humiques, semblent traduire une évolution, dans le profil, de ces substances par perte de fonctions phénoliques ; ces faits corroborent ceux observés par SCHNITZER et DESJARDINS (1965 et 1967) et par SAAS (1968).

β) *Comparaison des types de sols :*

Enfin, si nous considérons la somme des acides phénols, nous constatons également une diminution de cette valeur, alors que celle du taux d'humification augmente (Tableaux VI et VII).

5° *Essai d'interprétation de l'ensemble de ces résultats :*

Nous observons une diminution générale de la teneur en acides phénols lorsqu'on passe d'un horizon superficiel à un horizon sous-jacent ou d'un substratum peu humifié à un substratum très humifié ; cette évolution caractéristique est à rattacher à l'augmentation du taux d'humification et à un accroissement de la condensation de la matière organique.

On peut penser que la transformation des acides phénols est d'autant plus active que ces composés sont plus aptes à réagir par voie chimique et biologique ; ce fait est à rapprocher de la faible quantité d'acides libres (ou salifiés) par rapport à celle liée à la matière organique.

Si on admet que l'introduction des éléments acyles dans les édifices moléculaires complexes s'effectue par l'intermédiaire des composés simples, acides phénols ou leurs dérivés (hétérosides, esters), on peut dès lors se poser la question de savoir si la transformation de chacun d'eux fait l'objet d'un processus univoque.

Il est relativement aisé d'expliquer la présence d'un grand nombre de groupements acyles dans la matière organique des horizons A_1. Les lignines et leurs produits de dégradation traités en milieu faiblement alcalin constituent une source importante d'acide vanillique, syringique, p-coumarique, férulique, p-hydroxybenzoïque ; il a été démontré qu'une biodégradation des lignines par certains champignons fournit une quantité notable de ces mêmes produits (JACQUIN et MANGENOT, 1960).

D'autre part, il est vraisemblable que le lessivage des horizons superficiels entraîne des molécules simples dans les couches sous-jacentes ; au cours de leur migration, ces substances sont susceptibles de subir des transformations profondes soit isolément, soit en combinaison avec des dérivés azotés :

L'oxydation du groupement ortho - diphénol de l'acide protocatéchique et l'ouverture du cycle aromatique constituent deux processus facilement réalisables qui justifient à eux seuls la disparition de cet acide de certains horizons.

Les acides cinnamiques (p - coumarique, férulique) se prêtent aisément à la decarboxylation chimique (COHEN et *al,* 1960) ou enzymatique avec formation de polymères styréniques. Dans les sols, une décarboxylation enzymatique s'effectue facilement en présence d'*Aerobacter aerogenes* (FINKLE et *al.,* 1962).

La β-oxydation des acides cinnamiques se manifeste fréquemment aussi bien chez les microorganismes que chez les végétaux ; elle est la source d'une quantité non négligeable d'acides benzoïques. HENDERSON et FARMER (1955) ont montré que les microorganismes du sol sont capables de transformer l'acide férulique en acide vanillique tandis que ZENK et MULLER (1964) observent la formation d'acide p - hydroxybenzoïque par β - oxydation de l'acide p-coumarique.

IV. - CONCLUSION

Les résultats reproductibles obtenus à partir de plusieurs horizons caractéristiques permettent d'obtenir des renseignements concernant l'état des composés phénoliques dans les sols et l'interférence de ces substances sur la pédogénèse.

a) Influence du solvant sur la nature des composés extraits.

La comparaison des résultats issus de différents protocoles d'extraction (eau, solutions alcalines de $Ca(OH)_2$ et NaOH, méthanol) montre nettement que les quantités d'acides phénols extraites en milieu alcalin sont plus importantes que dans l'eau ou le méthanol.

La différence de comportement $Ca(OH)_2/NaOH$ peut être attribuée à une plus grande concentration des solutions de soude, à la solubilité des sels alcalins et peut-être aussi à l'absence d'effet complexant de l'ion Na^+.

Les solutions de soude semblent avoir une action plus profonde ; on admet aujourd'hui que la libération des acides p-coumarique, ferulique, vanillique,

syringique et p-hydroxyzenboïque sous l'effet de solutions faiblement alcalines, est liée à la rupture de fonctions esters dans lesquelles sont engagées des fonctions alcools.

On peut donc penser qu'avec nos conditions expérimentales, l'extraction à l'eau permet d'obtenir les acides phénols libres et leurs sels solubles, tandis que les réactifs alcalins provoquent la séparation des acides liés à la matière organique. Nos résultats sont encore insuffisants et notre étude trop sommaire, pour préciser la nature des groupements fonctionnels dans lesquels sont engagés ces acides ; il s'agit vraisemblablement de fonctions esters et amides. Une étude quantitative de l'extraction avec des solutions alcalines de concentration croissante s'impose dès lors pour vérifier la stabilité des acides extraits et en particulier des acides cinnamiques dont la décarboxylation est facilitée dans ces conditions.

b) **Rôle des composés phénoliques dans la pédogénèse des sols étudiés.**

1° *Interférence sur les processus de lessivage ou de podzolisation :*

Deux résultats importants mis en évidence récemment (BRUCKERT et JACQUIN, 1966 ; BRUCKERT, 1966) sont confirmés de façon très nette.

— Comparés aux horizons A_1 des sols bruns lessivés, les horizons A_1 des podzols contiennent une quantité beaucoup plus importante d'acides phénols et tout spécialement d'acide vanillique ; cette différence existe quel que soit le réactif d'extraction utilisé.

— Les horizons d'accumulation de ces deux types de sols s'opposent totalement par leur teneur en acides hydrosolubles et en composés extractibles par les réactifs alcalins ; la soude, par exemple, extrait trente fois plus d'acide vanillique d'un B_h de podzol (5,8 p.p.m.) que d'un B de sol brun lessivé (0,22 p.p.m.).

Comme nous le mentionnerons plus loin, cette variation de la teneur en acides phénols, renforce la différence des processus d'évolution entre lessivage et podzolisation.

2° *Influence possible sur l'activité biologique :*

Certains composés phénoliques seraient susceptibles, aux faibles concentrations dosées dans les mulls de stimuler l'activité biologique ; à l'inverse, les fortes concentrations rencontrées dans les sols à mor, ralentiraient cette activité.

3° *Relation entre l'évolution biochimique des substances phénoliques et les processus d'humification :*

Nous confirmons de façon évidente des résultats obtenus par l'un d'entre nous (JACQUIN, 1963), concernant l'évolution biochimique des acides phénols : ces acides sont susceptibles de former, par polymérisation, des molécules complexes à poids moléculaire élevé et en règle générale, lorsque le taux d'humification des échantillons augmente, on observe une diminution des teneurs en substances phénoliques. En outre, dans les sols à mor, la quantité d'acide vanillique est toujours trois ou quatre fois plus grande que celle de l'acide p-hydroxybenzoïque ; à l'opposé, dans les sols à mull, la teneur en acide p-hydroxybenzoïque est au moins égale, sinon supérieure à celle de l'acide vanillique.

Ainsi, l'ensemble de ces résultats permet d'interpréter de façon plus claire les processus pédogénétiques intervenant dans les sols à mull et à mor :

— dans les sols à mull, les acides organiques (acides phénols et aliphatiques) peuvent être immobilisés très rapidement dès l'horizon A_1 par des processus physico - chimiques, correspondant à une adsorption par les argiles (BINGHAM et *al.*, 1965) ou par les sesquioxydes (KING et BLOOMFIELD, 1966), ils peuvent également subir une évolution biochimique par polymérisation et transformation en composés humiques ; enfin, dès ce niveau, les acides sont fortement biodégradés par une microflore très active (BRUCKERT et DOMMERGUES, 1966 et 1967). De toutes façons, ces actions conjuguées impliquent leur disparition très rapide dans les horizons profonds.

— à l'opposé, dans les sols à mor, les anions organiques, peu immobilisés en surface (complexation - polymérisation et biodégradation faibles) peuvent migrer et entraîner les sesquioxydes en profondeur vers les horizons d'accumulation, où l'on assisterait à une polymérisation différée des acides phénols en composés humiques.

RESUME

Ces recherches apportent des précisions sur les protocoles d'extraction et d'isolement des composés phénoliques des sols ; les résultats permettent d'ob-

tenir des renseignements concernant la mise en solution des phénols simples à partir de composés plus complexes.

D'autre part, ce travail confirme certains processus pédogénétiques et particulièrement une différence entre lessivage et podzolisation ; dans les sols à mull, on assiste dès la surface à une immobilisation très rapide des acides organiques et à leur disparition par biodégradation ; à l'inverse, dans les sols à mor, on note une migration en profondeur.

BIBLIOGRAPHIE

BINGHAM (F.T.), SIMS (J.R.) et PAGE (A.) - 1965. — Retention of acetate by montmorillonite.
Proc. Soil Sci. Soc. Am., **29**, 670-672.

BRUCKERT (S.) - 1966. — Répartition des acides hydrosolubles dans quelques profils de sols forestiers.
C. R. Acad. Sci. Paris, **263**, 1572-1575.

BRUCKERT (S.) et DOMMERGUES (Y.) - 1966. — Etude expérimentale de la biodégradation de deux complexes organo-ferriques dans un sol à mor et dans un sol à mull.
Sci. du Sol, **2**, 65-76.

BRUCKERT (S.) et DOMMERGUES (Y.) - 1967. — Importance relative de l'immobilisation physico - chimique et de l'immobilisation biologique du fer dans les sols.
Sci. du Sol (en préparation).

BRUCKERT (S.) et JACQUIN (F.) - 1966. — Relation entre l'évolution des acides hydrosolubles de deux litières forestières et les processus pédogénétiques.
Bull. ENSAN, **8** (2), 95-112.

BURGES (A.), HURST (H.M.), HIRST (M.), DEAN (F.M.) et WALKDEN (S.B.) - 1963. —
Nature, London, **199**, 696.

COHEN (L.A.) et JONES (W.M.) - 1960. — A study of pH dependance in the decarbonylation of p-hydroxycinnamic acid.
J. Amer. Chem. Soc., **82**, 1907-1911.

COULSON (C.B.), DAVIES (R.I.) et LEWIS (D.A.) - 1960. —
I. - Polyphenols in plant humus and soil ; polyphenols of leaves, litter and superficial humus from mull and mor sites.
II. - Reduction and transport by polyphenols of iron model soil communs.
J. of Soil Sci. G.B., **11** (1), 20-44.

DOMMERGUES (Y.) et DUCHAUFOUR (Ph.) - 1965. — Etude comparative de la dégradation biologique des complexes organo-ferriques dans quelques types de sols.
Sci. du sol, **1**, 43-59.

DUCHAUFOUR (Ph.) et JACQUIN (F.) - 1966. — Nouvelles recherches sur l'extraction et le fractionnement des composés humiques.
Bull. ENSAN, **8** (1), 3-24.

FINKLE (B.J.), LEWIS (J.C.), CORSE (J.W.) et LUNDIN (R.E.). — Enzyme Reactions with Phenolic Compounds : Formation of Hydrocinnamie Acids by Aerobacter.

FLAIG (W.) - 1960. — Comparative chemical investigations on natural humic compounds and their model substances.
Sci. Proc., **1** (4), 149.

FLAIG (W.) - 1964. — Effects of micro-organisms in the transformation of lignin to humic substances.
Geochimica et Cosmochimica Acta, **28**, 1523-1535.

FLAIG (W.) - 1965. — Action des produits de dégradation de la lignine sur le métabolisme végétal ; mécanisme possible de cette action.
C.R. Acad. Agr., **51** (17), 1118.

HAIDER (K.), FREDERICK (L.R.) et FLAIG (W.) - 1965. — Reactions between amino acid compounds and phenols during oxidation.
Plant and Soil, **22** (1), 49-64.

HARBORNE (J.B.) et CORNER (J.) - 1961. — Plant polyphenols. Hydroxycinnamio acid-sugar derivatives.
Biochem. J., **81**, 242-250.

HENDERSON (M.E.K.) et FARMER (V.C.) - 1955. — Utilization by soil fungi of p-hydroxybenzaldehyde, acid ferulic, syringaldehyde and vanillin.
J. gen. Microbiol., **12** (1), 37-46.

JACQUIN (F.) et MANGENOT (F.) - 1960. — Populations microbiennes des bois. - IV. Humification de copeaux dans la nature.
Plant and Soil, **12** (3), 276-284.

JACQUIN (F.) - 1963. — Contribution à l'étude des processus de formation et d'évolution de divers composés humiques.
Bull. ENSAN, **5** (1), 156 p.

JENKISON (D.S.) - 1965. — Organic matter in soil.
New. Sc., **23**, 746-748.

KING (H.G.C.) et BLOOMFIELD (C.) - 1966. — The reaction between water-soluble tree leaf constituents and ferric oxide in relation to podzolisation.
J. Sci. Fd. Agric., **17**, 39-43.

KNÖSEL (D.) - 1959. — Uber die Wirkung aus Planzenresten freiwerdender, phenolischer Substanzen auf Mikroorganismen des Bodens.
Z. Pflanz. Düngung Bodenkunde, **85** (1), 58-66.

MARTIN-MARTINEZ (F.)et PETRE (de A.A.) - 1965. — Presencia de compuestos ferrolicos libres en tipos de suelos distintos.
Anales de Edafologia y agrob., **24**, 633-642.

METCHE (M.), JACQUIN (F.), NGUYEN (OH.) et URION (E.) - 1962. — Détermination quantitative d'acides - phénols par chromatographie sur papier.
Bull. Soc. Chim. Fr., 1763-1765.

MUIR (J.C.), MORISSON (R.I.), BOWN (C.J.) et LOGAN (J.) - 1964. — The mobilisation of iron by aqueous extracts of plants : I. Composition of the amino-acid and organic-acid fractions of an aqueous extract of pines needles. - II. Capacities of the amino - acid and organic-acid fractions of a pine needle extract to maintain iron in solution.
J. of Soil Sci., **15** (2), 220-237.

NYKVIST (N.) - 1963. — Leaching and decomposition of water-soluble organic substances from different types of leaf and needle litter.
Studia Forestalia Suecica, **3** - Skogsbiblioteket Stockholm.

SAAS (A.) - 1968. — Contribution à l'étude des complexes organo-minéraux dans les sols (Sous presse).

SCHNITZER (M.) et DESJARDINS (J.G.) - 1965. — Carboxyl and phenolic hydroxyl groups in some organic soil and their relation to the degree of humification.
Can. J. Soil Sci., **45** (3), 257-264.

SCHNITZER (M.) et DESJARDINS (J.G.) - 1967. — Oxygen containing functional groups in organic soils and their relation to the degree of humification as determined by solubility in sodium pyro-phosphate solution.
Can. J. Soil Sci., **46**, 237-243.

WHITEHEAD (D.C.) - 1964. — Identification of p-hydroxybenzoic, vanillic, p-coumaric and ferulic acids in soils.
Nature, London, **202**, 417-418.

ZENK (M.H.) et MULLER (G.Z.) - 1964. —
Naturforsch., **19** (b), 398.
